

**Особенности морфологических изменений легочной ткани крыс молодого возраста  
в условиях экспериментального аллоксанового диабета**

**Теслык Т.П., Дмытрук С.Н., Понырko А.А., Ивченко В.Д.**

**Резюме.** В статье приведены данные микроморфометричного анализа изменений легочной ткани в условиях экспериментального сахарного диабета. Для экспериментального моделирования гипергликемии, использовали раствор дигидрата аллоксана, который вводили после 24-часового голодания. Гистологические срезы легких окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Исследование проводили с помощью сканирующей электронной микроскопии. Компенсаторно-приспособительные механизмы при экспериментальном аллоксановом диабете в легких проявлялись эмфизематозными изменениями, которые сочетались с рестрикцией.

**Ключевые слова:** крысы, сахарный диабет, легкие.

**Введение.** Сахарный диабет (СД) является широко распространенным заболеванием во всех регионах мира. Эпидемиология СД из года в год отмечается непрерывным увеличением количества больных и лиц, имеющих соответствующие риски возникновения этого заболевания [1]. Дефицит инсулина в одних случаях и инсулинорезистентность в других приводят к хронической гипергликемии и активации процессов гликозилирования, которые формируют главный патогенетический механизм СД и, в условиях неконтролируемого течения, определяют его осложнения. У пациентов с СД отмечены особенности течения заболеваний органов дыхания, которые длительное время могут иметь скрытый характер [2,3,4,5].

Результаты исследований в этом направлении представлены в немногих публикациях, доказывающих диабетическое поражение легких, обусловленное влиянием

на структуру и функцию эндотелиальных клеток капилляров альвеол, что проявляется утолщением базальной мембраны, стенок артериол и самих альвеол, и может рассматриваться как проявление диабетической микроангиопатии. Снижение эластичных свойств легких характерно для больных СД разного возраста, тогда как нарушения легочной диффузии встречается, в основном, у пациентов старшего возраста. Эти данные дают право считать легкие органами-мишенями при СД [6,7].

Итак, морфологическая основа развития респираторной патологии и структурные особенности адаптации легочной ткани в условиях СД остаются на сегодня окончательно не изученными, что определяет актуальность дальнейших исследований в данном направлении.

**Цель исследования** - установить основные структурные преобразования легочной ткани крыс молодого возраста в условиях экспериментального аллоксанового диабета.

**Материалы и методы исследования.** Исследование проведено на 48 белых лабораторных крысах-самцах в возрасте от 1 до 4 месяцев, массой  $170,1 \pm 0,13$  г. Животные были разделены на 4 экспериментальные группы (по 6 особей): 1 гр. - животные со сроком аллоксанового диабета 30 суток, 2 гр. - 60 суток, 3 гр. - 90 суток, 4 гр. - 120 суток. Морфологические показатели животных каждой экспериментальной группы сравнивали с соответствующими показателями интактных животных, которых разделили на 4 контрольные группы по 6 особей.

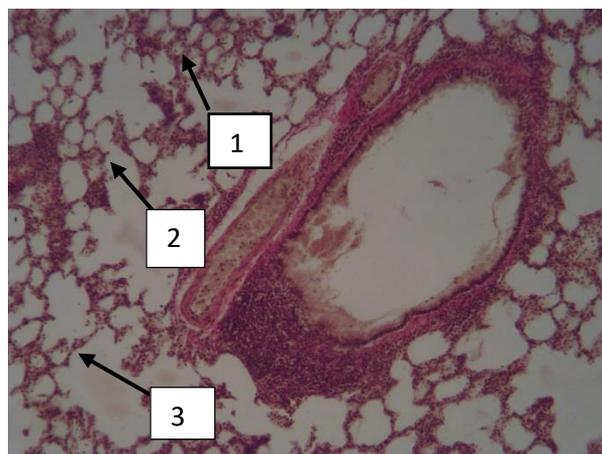
Процедура содержания и все манипуляции на животных проводились согласно общепринятым рекомендациям, требований и положений, изложенных в следующих документах: «Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985) и «Общие этические

принципы экспериментов на животных», принятых Первым Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001 г.).

Для экспериментального моделирования гипергликемии использовали раствор дигидрата аллоксана. После 24-часового голодания на фоне нормальных показателей глюкозы крови (3,5-6,3 ммоль/л) животным вводили подкожно раствор дигидрата аллоксана в дозе 20 мг на 100 г массы тела на 0,1 М цитратном буфере (рН 4,0). Изготовление гистологических препаратов легких проводились согласно унифицированным методам. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Исследование препаратов осуществляли с помощью светового микроскопа Olympus BH-2 (Olympus, Япония) с фотофиксацией цифровой камерой Baumer/optronic Тур: CX 05с. Также препараты исследовали на сканирующем электронном микроскопе РЭМ-106и (Selmi, Украина). Морфометрию проводили с помощью программы Digimizer 2007, измеряли ширину альвеол (ША), глубину альвеол (ГА) и ширину входа альвеолы (ШВА). Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программного пакета Statistica v.10 («StatSoft Inc.», США). Выполняли дескриптивный анализ каждой выборки. Для оценки отличий между выборками использовали U-критерий Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента корреляции Спирмена ( $R_s$ ). Дисперсионный анализ выполняли с расчетом H-критерия Краскела-Уоллиса.

**Результаты исследования.** При гистологическом исследовании полутонких срезов ткани легких интактных крыс молодого возраста установлено: кровенаполнение легочных сосудов равномерное, в их просвете - значительное количество эритроцитов, состояние легочной паренхимы в пределах физиологической нормы. В составе межальвеолярных перегородок у крыс в возрасте 4 месяцев встречаются единичные

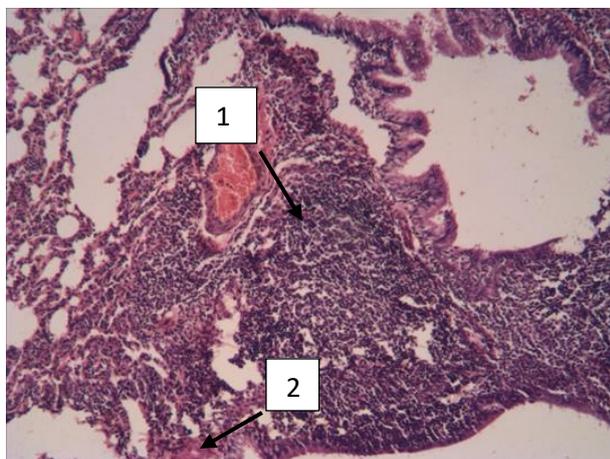
коллагеновые волокна (явления склероза). Просвет альвеол был свободным и не содержал включений. Перибронхиальные и периваскулярные пространства содержали скопления небольшого количества лимфоидной ткани (рис.1). Такая морфологическая варибельность отражает возрастные особенности нормальной структуре легких в условиях физиологического состояния.



**Рис. 1.** Легочная ткань интактной крысы возрастом 4 месяца. Окраска по Ван-Гизону.  $\times 100$  (1- полость альвеолы, 2 - межальвеолярные перегородки; 3 - единичные коллагеновые волокна)

Динамика морфометрических показателей легочных структур у интактных крыс в возрасте от одного до четырех месяцев свидетельствует о формировании возрастных компенсаторно-приспособительных изменений эмфизематозной направленности: незначительное увеличение ША, ГА, ШВА. Интегральные показатели углеводного обмена у животных контрольной группы находились в физиологических пределах (табл.1).

По результатам микроскопического исследования полутонких срезов легких животных экспериментальной группы на 30 сутки аллоксанового диабета значительных структурных отличий от интактных животных выявлено не было, за исключением незначительной гипертрофии перибронхиальных и периваскулярных лимфоузлов с выраженной васкуляризацией (рис. 2).



**Рис. 2.** Легочная ткань с перибронхиальной лимфатическими узлами крысы молодого возраста со сроком экспериментального сахарного диабета 30 суток. Окраска гематоксилин-эозин.  $\times 200$  (1 - лимфатический узел, 2 - кровеносные сосуды).

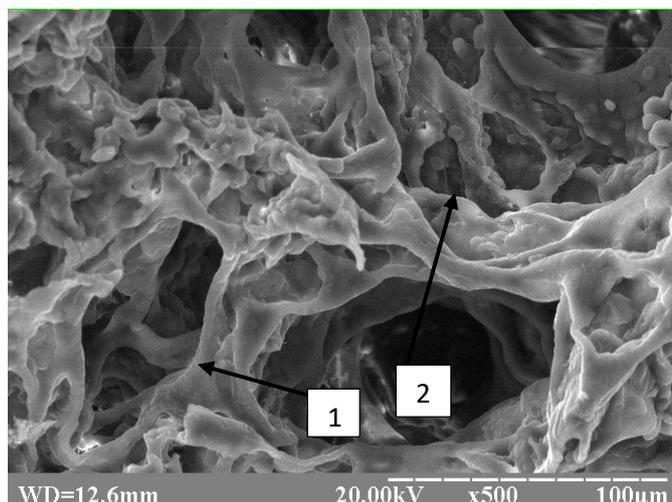
Показатель уровня гипергликемии у крыс экспериментальной группы на 30 сутки сахарного диабета составлял  $8,3 \pm 0,3$  ммоль / л, HbA1C –  $7,2 \pm 0,3\%$ , что свидетельствует о средней степени тяжести заболевания. По данным морфометрического анализа установлено, что у крыс на 30 сутки экспериментального сахарного диабета по сравнению с интактными животными, достоверно увеличились показатели ША - на  $17,4\%$  ( $p < 0,05$ ), ШВА - на  $0,45\%$  ( $p < 0,05$ ). Показатель ГА у крыс на 30 сутки аллоксанового диабета увеличился на  $6,3\%$  ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактными животными.

Гистологическое исследование легких крыс на 60 сутки эксперимента показало, что на фоне нарастания эмфизематозных изменений присутствовали очаги полуспавшихся альвеол, что является морфологическим признаком слабого наполнения воздухом отдельных участков. Межалвеолярные перегородки имели различную толщину, просвет альвеол был свободным. Вокруг бронхов и бронхиол были обнаружены концентрические скопления лимфоидной ткани в виде «муфт». Средние показатели уровня глюкозы и HbA1C в крови экспериментальных животных составляли соответственно  $8,5 \pm 0,1$  ммоль/л и  $7,5 \pm 0,1\%$  (средняя степень тяжести сахарного диабета). Показатели ША, ШВА увеличились на  $29,0\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $11,6\%$  ( $p < 0,05$ ) соответственно,

показатель ГА уменьшился на 3,1% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с такими у интактных животных.

Структурные особенности легочной ткани крыс на 90 сутки эксперимента практически не отличались от таковых у животных на 60 сутки аллоксанового диабета, что было подтверждено данными морфометрических измерений: ША -  $81,3 \pm 0,4$  мкм, что больше на 17,0% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем, ШВА -  $49,4 \pm 0,3$  мкм, что больше на 27,3% ( $p < 0,05$ ), чем у интактных животных. Показатель ГА уменьшился на 9,3% ( $p < 0,05$ ). Уровень глюкозы в крови крыс на 30 сутки эксперимента составлял  $8,7 \pm 0,1$  ммоль/л, уровень HbA1C -  $8,3 \pm 0,1$ %.

Светооптическое исследование легких крыс молодого возраста со сроком экспериментального сахарного диабета 120 суток показало неравномерность альвеол (расширенные и спавшиеся), утолщение и полнокровность межальвеолярных перегородок. В просвете альвеол встречались единичные эритроциты. Перибронхиально и периваскулярно обнаружены разновеликие скопления лимфоидной ткани, содержащие значительное количество сосудов. Уровень глюкозы в крови животных экспериментальной группы составил  $8,1 \pm 0,1$  ммоль / л, уровень HbA1C –  $8,39 \pm 0,1$ %. Среднегрупповые показатели ША, ШВА увеличились на 10,6% ( $p < 0,05$ ) и 38,7% ( $p < 0,05$ ) соответственно (рис.3), показатель ГА уменьшилась на 21,4% (табл. 1).



**Рис. 3.** Легочная ткань молодой крысы со сроком сахарного диабета 120 суток. Сканирующая электронномикроскопическая фотография.× 500. (1 - гипертрофированная межальвеолярная перегородка; 2 - увеличенная ширина альвеолы).

В условиях 30 и 60 суток гипергликемии у экспериментальных животных не установлено достоверной корреляционной связи между показателями ША, ШВА и уровнем глюкозы в крови. В условиях более длительной гипергликемии (90 и 120 суток), между показателями ША, ШВА и уровнем глюкозы в крови отмечены соответственно достоверные тесная и умеренная корреляционные связи. Между показателями ША, ШВА и величиной HbA1C установлены достоверные тесные корреляционные связи в различных условиях длительности гипергликемии (30, 60, 90 и 120 суток). У животных экспериментальной группы лишь при условии продолжительности гипергликемии 90 и 120 суток выявлена достоверная тесная отрицательная связь между показателями ГА и уровнем глюкозы в крови. Между показателями ГА и величиной HbA1C также была установлена тесная отрицательная связь, но в условиях 30, 60, 90 и 120 суток экспериментальной гипергликемии (табл. 1).

Следовательно, сила связи между показателями ША, ШВА и уровнем глюкозы крови экспериментальных животных возрастала с увеличением продолжительности гипергликемии. Корреляционная связь между показателями ША, ШВА и величиной HbA1C была более тесная, чем связь между показателями ША, ШВА и уровнем глюкозы в крови, что свидетельствует о большей прогностической значимости показателя HbA1C по отношению к развитию патоморфологических изменений в ткани легких в условиях длительной гипергликемии. Разнонаправленность корреляционной связи между показателями ША, ШВА и HbA1C (положительная связь) и ГА и HbA1C (отрицательная связь) отражает особенность патоморфологических изменений в ткани легких, которая заключается в увеличении ША и ШВА наряду с уменьшением ГА при увеличении продолжительности экспериментальной гипергликемии.

**Результаты корреляционного анализа данных, полученных в экспериментальных группах крыс с разным сроком длительности гипергликемии**

Пары показателей		Длительность гипергликемии 30 суток				Длительность гипергликемии 60 суток			
		M±m		R <sub>s</sub>	p <sub>s</sub>	M±m		R <sub>s</sub>	p <sub>s</sub>
ША, мкм	ГК, ммоль/л	78,3±0,2	8,3±0,3	0,49	0,321	89,4±0,3	8,5±0,1	0,55	0,099
	НbA <sub>1</sub> C, %		8,1±0,3	0,94	0,005		8,6±0,1	0,84	0,003
ШВА, мкм	ГК, ммоль/л	31,2±0,1	8,3±0,3	0,47	0,348	43,2±0,1	8,5±0,1	0,56	0,089
	НbA <sub>1</sub> C, %		8,1±0,3	0,96	0,005		8,6±0,1	0,92	0,0001
ГА, мкм	ГК, ммоль/л	55,8±0,1	8,3±0,3	-0,64	0,092	52,3±0,1	8,5±0,1	-0,47	0,165
	НbA <sub>1</sub> C, %		7,2±0,3	-0,91	0,013		7,5±0,1	-0,86	0,001
Пары показателей		Длительность гипергликемии 90 суток				Длительность гипергликемии 120 суток			
		M±m		R <sub>s</sub>	p <sub>s</sub>	M±m		R <sub>s</sub>	p <sub>s</sub>
ША, мкм	ГК, ммоль/л	83,1±0,4	8,7±0,1	0,70	0,023	77,0±0,3	8,1±0,1	0,68	0,021
	НbA <sub>1</sub> C, %		8,3±0,1	0,96	0,0001		7,05±0,1	0,93	0,003
ШВА, мкм	ГК, ммоль/л	49,4±0,3	8,7±0,1	0,70	0,024	54,1±0,6	8,1±0,1	0,65	0,032
	НbA <sub>1</sub> C, %		8,3±0,1	0,95	0,0002		7,05±0,1	0,91	0,011
ГА, мкм	ГК, ммоль/л	49,6±0,2	8,7±0,1	-0,82	0,003	44,8±0,1	8,1±0,1	-0,78	0,002
	НbA <sub>1</sub> C, %		8,3±0,1	-0,93	0,0001		8,39±0,1	-0,89	0,001

Результаты дисперсионного анализа с использованием критерия Краскела-Уоллиса показали наличие существенного влияния продолжительности экспериментальной гипергликемии на показатели ША, ШВА и ГА ( $p < 0,0001$ ). При этом, интегральный показатель уровня гипергликемии (НbA<sub>1</sub>C) в группах животных в течение всего срока эксперимента достоверно не изменялся, а, следовательно, не влиял на динамику показателей ША ( $p = 0,398$ ), ШВА ( $p = 0,262$ ) и ГА ( $p = 0,294$ ).

Таким образом, в легких животных, которые находились в условиях экспериментального алоксанового диабета, начиная с 10 суток происходили процессы

эмфизематозного направления (увеличение показателей ША, ШВА) рядом с рестриктивными изменениями (уменьшение показателей ГА), на которые указывает увеличение количества коллагеновых волокон в строме главного органа дыхательной системы по сравнению с животными интактной группы. Такие процессы связаны с уменьшением эластических свойств легких в результате их фиброзирования. Прогрессивное увеличение ширины альвеол и входов в альвеолы, сопровождающие течение экспериментального сахарного диабета, можно рассматривать как компенсаторно-приспособительный механизм, который разворачивается в данных условиях. Снижение эластичных свойств легких, на которое указывает уменьшение глубины альвеол через три месяца течения экспериментального сахарного диабета, может быть связано с неферментативным гликозилированием тканевых белков в результате длительной гипергликемии.

**Выводы.** Компенсаторно-приспособительные структурные изменения в легких, которые возникают в условиях экспериментального аллоксанового диабета, выражаются в комбинации эмфизематозных процессов с рестрикцией, что проявляется в уменьшении глубины альвеол, увеличении ширины альвеол и ширины входа в альвеолы; степень выраженности этих изменений зависит от продолжительности неконтролируемой гипергликемии.

Морфологические изменения в легких при экспериментальном сахарном диабете приводят к вероятному увеличению объема функционального мертвого пространства и редукции дыхательных объемов.

#### **Список литературы:**

1. Кузишин О.В. Біохімія цукрового діабету: 1.Теоретична частина (огляд) / [Текст] О.В.Кузишин, Н.В.Ковалишин та ін. // Медична хімія – 2010 - №1 – С.74-102.

2. Saurabh Srivastava. Re-evaluating antidiabetic effect of pioglitazone in alloxan induced diabetic animal model [Text] / Saurabh Srivastava, Shalini Gupta // Research and reviews: journal of farmacology and toxicological studies – 2013 – V.1 – P.52-55.

3. Mustfa Yildiz. Changes in rat ovary with experimentally induced diabetes and the effects of lycopene on those changes [Text] / Mustfa Yildiz, Mustafa Sandikci // Romanian Journal of Morphology & Embryology – 2016 – V.57 – P.703-713.

4. Guangming Gong. Investigation of the effects and mechanisms of Mai Tong formula on lower limb macroangiopathy in a spontaneous diabetic rat model [Text] / Guangming Gong, Haipo Yuan et all // Journal of Diabetes Research – 2016 - P.1-8.

5. Nuria Alonso. Impact of diabetes on the predictive value of heart failure biomarkers [Text] / Nuria Alonso, Josep Lupyn et all // Cardiovascular Diabetology – 2016 – V.15 – P.1-9.

6. Соколов Е.И. Газообменная функция легких у больных сахарным диабетом / [Текст] Е.И.Соколов, Ю.И.Демидов // Терапевтический архив – 2008 – Том 80 – С.63-66.

7. Степанян И.Э. Особенности заболеваний легких при сахарном диабете [Текст] / И.Э. Степанян // Атмосфера. Пульмонология и аллергология – 2009 - №4 – С.8-10.

**Особенности морфологических изменений легочной ткани крыс молодого возраста**

**в условиях экспериментального аллоксанового диабета**

**Теслык Т.П., Дмытрук С.Н., Поньрко А.А., Ивченко В.Д.**

Сумской государственной университет, медицинский институт, кафедра морфологии

г.Сумы, Украина

**Ключевые слова:** крысы, сахарный диабет, легкие.

Особенности морфологических изменений легочной ткани крыс молодого возраста  
в условиях экспериментального аллоксанового диабета / Т.П. Теслык, С.Н. Дмытрук,  
А.А. Поньрко и др. // Azerbaijan Medical Journal. - 2018. - №3. - P. 104-109.